

Plan Wykładów

„MOLEKULARNE TECHNIKI ANALIZY RNA”

semestr zimowy 2013-14r. (piątek, 16:00, sala nr 7, gmach IBB PAN)

1. (04.10) „Świat RNA” cz. 1 – Joanna Kufel, IGiB UW.

Koncepcja „RNA world”, Noble w dziedzinie RNA. Katalityczne cząsteczki RNA – klasy, mechanizm, występowanie. SELEX. Pozostałości świata RNA - rybosom, splajsosom, wirusy RNA. Różnorodność klas RNA u Eukaryota i ich metabolizm. Podstawowe mechanizmy regulacji ekspresji genów.

2. (11.10) „Świat RNA” cz. 2 – Joanna Kufel, IGiB UW. „Przegląd technik opartych o odwrotną transkrypcję” – Michał Koper,

IGiB UW (wykład dzielony). Kontynuacja wykładu 1 oraz teoria odwrotnej transkrypcji (RT). Przegląd technik opartych o RT: RT-PCR w tym półilościowy, pulsacyjny RT-PCR, RACE, cRT-PCR, technika wydłużania startera ("primer extension").

3. (18.10) „Techniki badania transkrypcji: TRO, ChIP, RIP i DIP. Analiza końców poliA RNA” – Michał Koper, IGiB UW.

Techniki badania nowopowstających transkryptów: jądrowy „Transcription Run-On”, immunoprecypitacja chromatyny (ChIP), immunoprecypitacja RNA (RiP). Do zilustrowania powyższych technik posłużą badania terminacji transkrypcji Polimerazy I RNA. Specyficzność wiązania DNA przez czynniki transkrypcyjne: „ChIP on chip”, immunoprecypitacja DNA (DIP). Badanie końców poliA RNA (technika PASE, izolacja frakcji RNA poliA⁺).

4. (25.10) „Biogeneza małych RNA (sRNA)” – Monika Zakrzewska-Płaczek, IGiB UW.

Podział sRNA ze względu na ich biogenezę i funkcje. Ścieżki syntezy sRNA. Udział sRNA w różnorodnych mechanizmach interferencji RNA u nicieni, ssaków i roślin.

5. (08.11) „Rola chromatyny w regulacji ekspresji genów” – Monika Zakrzewska-Płaczek, IGiB UW.

Struktury subjadrowe, budowa nukleosomu, histony i ich modyfikacje. Czynniki remodelujące chromatynę, czynniki transkrypcyjne. Rola stanów chromatyny – euchromatyny i heterochromatyny – w transkrypcji. Mechanizmy wyciszania transkrypcji: RNAi, antysensowny RNA. Kompleksy RNP biorące udział w wyciszaniu transkrypcji.

6. (15.11) „Inne niekodujące RNA (ncRNA)” – Joanna Kufel, IGiB UW.

Struktura, synteza i funkcje wybranych ncRNA w regulacji ekspresji genów. Wszechobecna transkrypcja genomów. CUT, SUT, PROMTP etc. – transkrypcyjny hałas czy funkcjonalne cząsteczki? Kontrola jakości ncRNA. ncRNA w medycynie – choroby skorelowane z defektami w syntezie i działaniu ncRNA.

7. (22.11) „PCR w czasie rzeczywistym (ilościowy; qPCR)” – Michał Koper, IGiB UW.

Teoria qPCR: sposoby detekcji DNA, podstawy projektowania starterów, sondy hybrydizacyjne, wprowadzenie do obliczeń. Zastosowania: określanie poziomu badanych transkryptów w komórce, wykrywanie kwasów nukleinowych patogenów, detekcja pojedynczych mutacji (SNP). Dobra praktyka laboratoryjna przy doświadczeniach qPCR i najczęstsze „pułapki czekające” na eksperymentatorów.

8. (29.11) „RNA w neuronach” – Magdalena Dziembowska, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN.

Transport mRNA do wypustek komórek nerwowych i lokalna translacja w odpowiedzi na pobudzenie synaptyczne. Metody wizualizacji mRNA z żywym neuronem w czasie rzeczywistym, hybrydizacja *in situ*, metody biochemiczne pozwalające na bezpośrednią detekcję transkryptów ulegających lokalnej translacji w neuronach.

9. (06.12) „Udział metabolizmu RNA w procesach fizjologicznych” – Anna Golisz, IGiB UW.

Czynniki metabolizmu RNA i miRNA u roślin – rola w przekazywaniu sygnałów hormonalnych, rozwoju embrionalnym i generatywnym, zegarze dobowym, odporności na stres i patogeny.

10. (13.12) „Struktura RNA a funkcja. Mapowanie struktury RNA *in vitro*. Metody badania transkryptomów” – Michał Koper.

Zwijanie się RNA. Mapowanie struktury RNA *in vitro*: sondy molekularne trawiące specyficznie względem struktury i sekwencji RNA. Rybozomy. Przełączniki RNA i aptamery – naturalne oraz wyselekcjonowane na potrzeby leków lub biosensorów. Metody badania transkryptomów (mikromacierze, "deep-sequencing").

11. (20.12) „Globalne analizy kompleksów rybonukleoproteinowych” – Joanna Kufel, IGiB UW.

Metody biochemiczne czyszczenia kompleksów rybonukleoproteinowych (RNP). Drożdżowy system trzyhybrydowy. Chromatografia RNA w połączeniu ze spektroskopią mas. CRAC („crosslinking and analysis of cRNA”) i CLIP („crosslinking and immunoprecipitation”).

12. (10.01) „Metody badań strukturalnych RNA” – Marcin Nowotny, IICMB.

Metody badania struktur kompleksów RNA-białko, metody krystalizacji kompleksów RNP (na przykładzie rybosomu, snRNP, RNazy H). Porównanie krystalografii i badań NMR dla RNA. Technika SAXS. Chemiczne (SHAPE) i bioinformatyczne przewidywanie struktur RNA.

13. (17.01) „Badanie enzymów metabolizmu RNA na przykładzie egzozomu” – Rafał Tomecki, IBB PAN/IGiB UW.

Ścieżki rozkładu RNA w organizmach eukariotycznych. Egzo- i endo- nukleazy. Egzosom: wielofunkcyjny i wieloskładnikowy kompleks. Badania strukturalne i funkcjonalne egzozomu u drożdży i w komórkach ludzkich. Mechanizm działania, współpraca aktywności egzo- i endo-nukleolitycznej.

14. (24.01) „RNowe nowości” – Joanna Kufel, IGiB UW.

Nowe klasy ncRNA. RNAi u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*? Fragmenty RNA powstałe z rozkładu stabilnych RNA. Nietypowe funkcje RNP.

Zasady zaliczania: studenci UW – egzamin na ocenę; studenci spoza UW – na „zał” lub egzamin na ocenę (do wyboru).

Koordynator przedmiotu: Michał Koper, mkoper@ibb.waw.pl